



Title	Field model for lateral diffusion of various transmembrane proteins in living Dictyostelium cells
Author(s)	竹林, 和俊
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/92175
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (竹林 和俊)

論文題名

Field model for lateral diffusion of various transmembrane proteins in
living *Dictyostelium* cells
(細胞性粘菌における膜タンパク質側方拡散運動の細胞膜フィールドモデル)

論文内容の要旨

膜貫通タンパク質は細胞膜上を拡散しながら物質の輸送やシグナル伝達など様々な機能を実現している。近年、拡散が機能と密接に関わっている例も報告されており、拡散動態の理解は膜タンパク質の理解に重要である。しかし、個別の分子について拡散動態の研究が活発に行われている一方で、より一般的に生細胞の細胞膜での分子の拡散がどのような要因で決まっているかについての研究は少ない。そのため、ある拡散運動がタンパク質種固有の特徴によるものなのか、周囲の膜環境によるものなのかを判断することは困難である。

本研究では細胞性粘菌の膜貫通タンパク質全143種類の細胞膜上での拡散を計測することを試み、種類ごとの差異や拡散を決定するような要因を明らかにするとともに、得られた特徴から計測した膜貫通タンパク質の拡散を再現するようなモデルの構築を行った。

細胞性粘菌の細胞膜に α -helixの膜貫通領域を持つ膜貫通タンパク質全143種類 1 分子イメージングでの計測を試み、1から10の膜貫通領域を持つ27種類について計測を完了した。平均二乗変位による解析から、全ての種類の膜タンパク質が近い値の拡散係数を持っており、自由拡散を示した。次に、哺乳細胞において拡散を抑制する効果を持つとされている細胞骨格の阻害剤等6種類の薬剤を細胞にそれぞれ添加して計測を行った。その結果、ほとんどの薬剤において全ての種類の膜タンパク質が自由拡散を示したまま拡散係数が一様に遅くなる変化が見られた。次に、確率密度関数と赤池情報量基準を用いた解析からどの種類、どの薬剤条件においても膜タンパク質が速度帯の異なる3つの拡散状態を持つことが分かった。隠れマルコフモデルを用いた解析から各拡散状態の拡散係数と割合が薬剤条件ごとに種類を問わず近い値を取っており、どの場合も自由拡散を示すことが分かった。この結果は動きを制限された制限拡散を示す分子が多く見られる哺乳細胞の結果とは対象的である。また、各分子の3状態の拡散係数はSaffman & Delbrückの理論モデルにより良く適合することが分かった。このモデルは膜の粘性だけが大きく拡散に寄与するようなモデルであり、分子の拡散が細胞膜によって大まかに決められていることを示唆している。細胞膜によって拡散が決まるという結果を下に3つの拡散状態に対応した3つの領域からなる拡散運動を生成するための細胞膜のモデル、細胞膜フィールドモデルを構築した。このモデルでは粒子は各領域で対応する状態の拡散係数で拡散運動する。3つの領域の大きさや面積比を変えることで各薬剤条件において計測値データとほぼ同じ解析値を持つ軌跡データを再現するようなフィールドを見つけることができた。

本研究の結果からどの種類の膜貫通タンパク質も自由拡散を示す3つの拡散状態を持っており、それが大きさなどの内在的な性質ではなくタンパク質の周囲の膜環境に依っていることが分かった。また、従来の拡散運動の解析では含まれていなかった膜の構造情報に着目することで細胞膜だけで拡散が決まるモデルを作ることができ、解析値がほとんど一致する拡散運動が得られた。さらに、計測で得られたような多状態を持つ自由拡散は比較的単純な膜構造だけ生み出すことができることが明らかになった。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (竹 林 和 俊)		
	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	教授 上田 昌宏
	副 査	教授 昆 隆英
	副 査	准教授 藤本 仰一

論文審査の結果の要旨

細胞膜は、環境情報の受容や処理、膜電位調節、細胞運動の制御など、細胞の生存に重要な様々な機能を担っている。そうした機能の多くは膜蛋白質を介して起こることから、細胞膜上で膜蛋白質が示す拡散運動や拡散を制御する仕組みの解明は、生命科学における重要な課題となっている。Singer と Nicolson (1972) による流動モザイクモデルの提唱以来、膜蛋白質の拡散動態を規定する細胞膜構造について様々なモデルが提唱されてきた。これまでの知見の集積により、細胞膜には脂質ラフト、膜直下の細胞骨格によるフェンス構造等といった、膜蛋白質の拡散に影響する多くの要素が存在することが明らかになってきた。また、膜蛋白質の拡散様式として、単純拡散、異常拡散、制限拡散等といった様々な様式が明らかになってきた。様々な膜蛋白質は、それぞれに特有の拡散動態を示すことが様々な細胞において個別に示され、膜蛋白質が示す多様な拡散動態は多様な要素との相互作用によって説明されてきた。しかし一方で、膜蛋白質の種類の個別性に依存しないような、様々な膜蛋白質に共通した普遍的な特徴は明らかになっていなかった。

本論文において竹林 和俊氏は、多くの膜蛋白質の拡散動態に共通した普遍的な特徴を明らかにするために、細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* の膜蛋白質 27 種類について、その拡散動態を 1 分子レベルで計測・解析する実験系を開発した。これらの膜蛋白質は膜貫通回数が 1 回から 10 回の分子種を含み、分子量も大きく異なることから、膜蛋白質が個別に有する構造に由来する拡散動態と膜蛋白質に共通してはたらく細胞膜の構造に由来する拡散動態を区別して、膜蛋白質の拡散動態の特徴を明らかにすることが可能になった。この実験系により、解析した全ての膜蛋白質が共通して 3 つの拡散状態を有して、それぞれの状態で自由拡散を示すこと、膜蛋白質の構造的な大きさと拡散係数の間には Saffman-Delbrück 理論モデルから予測される相関関係が成立することを明らかにした。さらに、拡散の解析手法として隠れマルコフモデル解析を導入することで、拡散 3 状態の各々の拡散係数と滞在時間を決定することにより、各拡散状態を規定する膜ドメインの空間スケールを推定した。こうした実験解析から得られた膜ドメインの特徴に基づく 1 分子シミュレーションにより、膜蛋白質が示す拡散動態を計算機内で定量的に再現することに成功した。これらの結果に基づき、申請者は、膜蛋白質の拡散動態を規定する細胞膜の構造として「膜フィールドモデル (Field model)」を提唱した。ここで推定された膜構造と拡散動態の特徴としては、細胞膜には粘性が異なる数 100 nm の大きさの 3 つの領域があり、膜蛋白質は種類によらず各領域内の粘性によって決まる拡散係数で単純拡散する、というものである。加えて、細胞骨格構造の阻害による膜蛋白質の拡散動態の変化についても実験的に示し、これも膜フィールドの変化として定量的に理解できることを明らかにした。これら一連の発見は、新規性も高く、細胞膜上での膜蛋白質の側方拡散の仕組みの理解を大きく進めるものである。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。